

平成 22 年 6 月 30 日現在

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2007～2009

課題番号：19390404

研究課題名（和文）急性肺傷害における Ⅰ型肺胞上皮傷害の機序および重症度に関する検討

研究課題名（英文）Type I alveolar epithelial cell injury in perioperative acute lung injury: clinical evaluation of severity using biomarker proteins

研究代表者

内田 篤治郎（UCHIDA TOKUJIRO）

東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：40262183

研究成果の概要（和文）：

手術に際して肺機能が低下した際の診断法の開発し、より早期に治療的な介入ができるように、Receptor for Advanced Glycation End Products（RAGE）の肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討を行った。周術期に採血し、血液中で、手術を契機に RAGE をはじめとするいくつかの因子の濃度がどのように変化するかを検討した。血中の RAGE 濃度は、術直後をピークに上昇し、上昇度と人工呼吸器期間や ICU 滞在期間の間に相関があることが示された。術直後の RAGE レベルは、肺の臓器機能傷害の指標として使用できることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：

We studied the serum RAGE level in patients undergoing major surgery, to establish the method to evaluate perioperative type I alveolar epithelial cell injury. RAGE level elevated immediately after the operation and its peak values significantly correlated with postoperative duration of artificial ventilation and the length of ICU stay. We concluded that RAGE is a useful biomarker for the evaluation of perioperative type I cell injury in the lung.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	6,400,000	1,920,000	8,320,000
2008 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2009 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
年度			
年度			
総計	14,300,000	4,290,000	18,590,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・麻酔・蘇生学

キーワード：(1) 肺胞上皮 (2) バイオマーカー (3) 急性肺傷害

## 1. 研究開始当初の背景

肺胞 I 型上皮は、肺胞表面の 95%を覆う上皮であり、形態学的な特徴から、肺実質を外気からの様々な刺激から保護する重要な役割を果たしていると考えられているが、細胞培養技術が難しいことなどから、その機能に関しては、これまでのところ、あまり明らかにはなっていない。われわれの研究グループでは、RAGE ( Receptor for Advanced Glycation End-products ) という、肺胞 I 型上皮に特異的に発現している膜結合タンパクに注目し、このタンパクの、肺傷害マーカーとしての有用性について研究してきた。これまでの基礎研究により、RAGE は、急性期の炎症によって、肺胞 I 型上皮細胞から遊離されるバイオマーカーとして使用できることが示された。そこで、今回の研究計画では、対象を周術期患者に拡大して対象症例数を増やし、RAGE の肺傷害マーカーとしての有用性を検討するための多施設共同研究を計画した。さらに複数のバイオマーカーとの比較を行うことで、肺傷害に関する有用なマーカーが確立すれば、これらの患者における重傷度評価ならびに治療効果の判定に役立てることができると考えられた。

## 2. 研究の目的

周術期患者を対象とした多施設共同研究により、RAGE をはじめとする数種類の肺傷害マーカー ( KL-6、von Willbrand 因子 ( vWF )、サーファクタントプロテイン D ( SP-D )、およびサイトカイン ) 濃度を測定し、比較検討を行うことで、肺組織に及んだ病態を分析するとともに、肺傷害の予後を反映するようなバイオマーカーを検討する。

## 3. 研究の方法

### ( 1 ) 多施設共同研究「RAGE の肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討 探索的研究」

目標症例数と試験期間：本研究は、平成 19 年度を初年度とし、3 年間の予定で施行する。次に示す ( A ) ~ ( H ) の 8 つのカテゴリーに属する予定手術症例について調査する。  
( A ) 胸部大動脈瘤に対する人工血管置換術 ( 胸腹部大動脈瘤を含む )  
( B ) 腹部大動脈瘤に対する人工血管置換術  
( C ) 弁置換手術  
( D ) 人工心肺を用いた CABG 手術  
( E ) オフポンプ CABG 手術  
( F ) 開胸開腹または胸腔鏡を用いた食道亜

全摘と消化管を用いた再建手術

( G ) 肺葉切除または肺全摘手術

( H ) 肝切除術 ( 移植手術を除く )

観察・検査項目および検体採取

調査開始日 ( 手術日 ) またはそれ以前 ( 1 ヶ月以内 ) で、最も近い日に検査された基礎データを記録する。手術当日は、麻酔導入後、手術開始前に、動脈ラインから採血を行い、血清分離用採血管 ( 7 ml )、ヘパリン採血管 ( 5 ml ) および、クエン酸ナトリウム採血管 ( 3 ml ) に採血する。30 分以内に遠心分離の後、1 ml ずつ分注し、- 70 に保管する。一人の患者あたりの調査期間を 28 日間と定め、( 1 ) 術後 28 日目における生存または死亡、( 2 ) ICU 滞在期間、( 3 ) 人工呼吸を要した期間を記録する。採血は、ICU 入室日を Day0 とし、Day0 ( ICU 入室時 )、Day 1、Day3、Day7 に行うものとする。動脈ラインまたは静脈穿刺により採血を行い、血清分離用採血管 ( 7 ml )、ヘパリン採血管 ( 5 ml ) および、クエン酸ナトリウム採血管 ( 3 ml ) に採血する。30 分以内に遠心分離の後、1 ml ずつ分注し、- 70 に保管する。

測定：上記の血清サンプル中の、RAGE 濃度を測定することにより、血中 RAGE 濃度の継時的推移と肺傷害の重症度、予後との相関について検討する。また、血清・血漿サンプル中の KL-6、vWF、SP-D 濃度を ELISA 法により測定し、比較検討を行うことで、それぞれの疾患カテゴリーごとに、肺組織に及んだ病態を分析し、さらに、臨床経過と照らし合わせることで、肺傷害の予後を反映するようなバイオマーカーを検討する。

### ( 2 ) 共同研究「肺移植患者における RAGE の肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討」

本研究は、カリフォルニア大学サンフランシスコ校心臓血管研究所 Michael Matthay 教授との共同プロジェクトとして進める予定である。片肺移植、両肺移植、および心肺移植を行う患者 30 名を目標に、肺の再灌流 4 時間後に患者から採血し、血清 RAGE 濃度を測定する。術後の臨床データを記録し、血清 RAGE 濃度と患者の予後について検討し、RAGE が移植手術後の移植肺の機能評価の上で有用なバイオマーカーとなりうるかについて検討を行う。RAGE 濃度については、治療者たちには知らせないものとし、肺移植治療全般は、治療者たちの定めた方針にのっとり行われるものとする。

#### 4. 研究成果

##### (1) 多施設共同研究「RAGEの肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討 探索的研究」

東京大学医学部附属病院、横浜市立大学附属市民総合医療センター、武蔵野赤十字病院、東京医科歯科大学附属病院における以下の予定心臓血管手術 116 例

- (A) 胸部大動脈瘤手術 27 例
  - (C) 弁形成・弁置換手術 49 例
  - (D) 人工心肺を用いた CABG 手術 3 例
  - (E) オフポンプ CABG 40 例
  - (F) 食道垂全摘と消化管を用いた再建手術 3 例
  - (G) 肺葉切除または肺全摘手術 14 例
- 術後 PCPS による循環補助が行われた症例は除外した。
- RAGE の周術期の値の変化については、食道手術症例および、肺外科手術においては、有意な変化を示さなかったが、心臓手術においては、以下のような傾向があり、RAGE が肺における損傷度を反映していることが示唆された。

図 1 に示すように、胸部大動脈手術や弁膜症手術では術後ピークを迎え、1-3POD に基礎値に復帰する傾向があり、オフポンプ手術では変化が少なかった。一方、同サンプルで測定した SP-D、vWF については、術式による差異はなく、変化のバリエーションも大きかった。

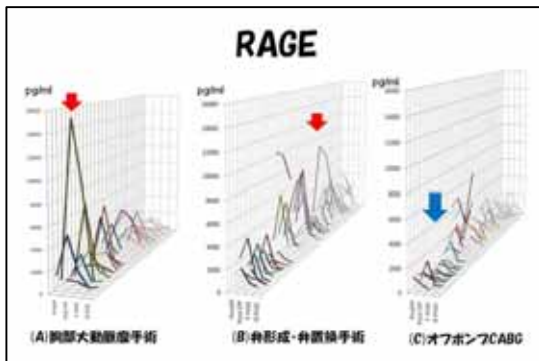


図 1：周術期 RAGE 濃度の推移

図 2-3 に示すように、術直後の血中 RAGE 濃度は、術後 28 日間における人工呼吸期間 (図 2) や ICU 滞在期間 (図 3) と有意な相関を示した。SP-D、vWF については、人工呼吸期間や ICU 滞在期間との有意な相関は認められなかった。

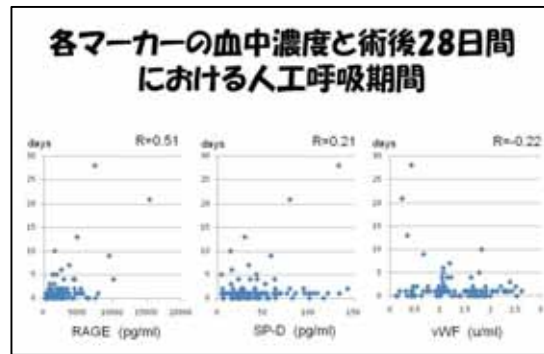


図 2：術直後の RAGE, SP-D, vWF 値と人工呼吸期間の相関に関する検討結果

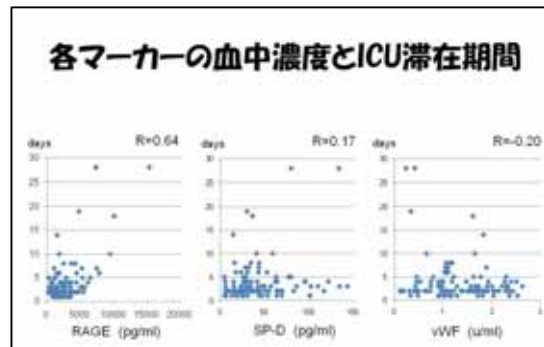
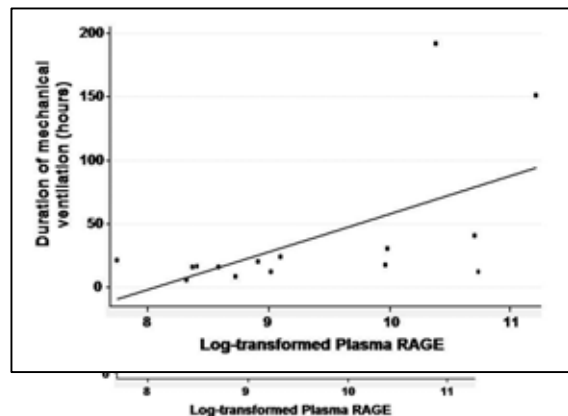


図 3：術直後の RAGE, SP-D, vWF 値と ICU 滞在期間の相関に関する検討結果

##### (2) 共同研究「肺移植患者における RAGE の肺傷害マーカーとしての臨床的意義の検討」

20 名の肺移植患者を対象に、移植再灌流 6 時間後に採血し、RAGE の血中濃度を調べた。RAGE の血中濃度は、術後の人工呼吸期間 (図 4) ・ ICU 滞在期間 (図 5) と有意な相関を示したが、KL-6、IL-6、IL-8 にはいずれの指標とも有意な相関はなかった。



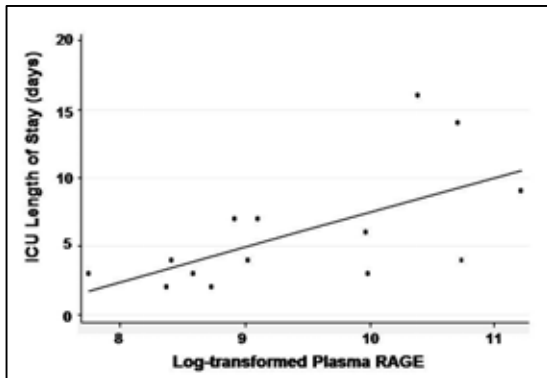


図 5：肺移植患者 20 名における術後の RAGE 値と人工呼吸期間の相関に関する検討結果

これらの検討により、術直後の RAGE レベルの測定が、が比較的大きな心臓血管手術や肺移植手術を受けた際の肺傷害の指標として、短期予後を反映することが示された。このように、RAGE は、傷害を受けた時点での重症度分類などの点で役に立つ可能性がある。また、肺傷害マーカーとしては、SP-D や KL-6 などと比べても、周術期経過をよりよく反映しているという性質が明らかとなり、周術期の患者の状態評価に貢献できるものと考えられ、国内外を問わず、今後の普及が期待される。

#### 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 5 件)

- 1) 内田篤治郎, 榎田浩史. 急性肺傷害の病態と治療 上皮機能からのアプローチ. 麻酔 57: 51-59, 2008
- 2) Briot R, Frank JA, Uchida T, Lee JW, Calfee CS, Matthay MA: Elevated levels of the receptor for advanced glycation end products, a marker of alveolar epithelial type I cell injury, predict impaired alveolar fluid clearance in isolated perfused human lungs. Chest 135:269-275, 2009
- 3) Calfee CS, Budev MM, Matthay MA, Church G, Brady S, Uchida T, Ishizaka A, Lara A, Ranes JL, deCamp MM, Arroliga AC. Plasma receptor for advanced glycation end-products predicts duration of ICU stay and mechanical ventilation in patients after lung transplantation. J Heart Lung Transplant. 26:675-680, 2007
- 4) Su X, Lee JW, Matthay ZA, Mednick G, Uchida T, Fang X, Gupta N, Matthay MA. Activation of the alpha7 nAChR reduces acid-induced acute lung injury in mice and rats. Am J Respir Cell Mol Biol.

37:186-192, 2007

- 5) Frank JA, Briot R, Lee JW, Ishizaka A, Uchida T, Matthay MA. Physiological and biochemical markers of alveolar epithelial barrier dysfunction in perfused human lungs. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol. 293:L52-59, 2007

〔学会発表〕(計 4 件)

- 1) 内田篤治郎 急性肺障害 上皮機能からのアプローチ 第 57 回日本麻酔科学会学術集会. 福岡 2010
- 2). 内田篤治郎: 急性肺傷害と Receptor for Advanced Glycation End-products, 第 28 回 急性呼吸不全に関する研究会. 東京, 2008
- 3) 内田篤治郎: 肺傷害と Receptor for Advanced Glycation End-products, 第 2 回 麻酔と細胞保護シグナル研究会. 東京, 2008
- 4) Yamakawa N, Uchida T, Matthay MA, K M: Expression of receptor for advanced glycation end-products (RAGE) in cultured alveolar epithelial cells., American Thoracic Society International Conference. Toronto, Canada, 2008

〔図書〕(計 0 件)

#### 6 . 研究組織

(1)研究代表者

内田 篤治郎 (UCHIDA TOKUJIRO)  
東京医科歯科大学・医学部附属病院・講師  
研究者番号: 40262183

(2)研究分担者

なし

(3)研究協力者

Michael A. Matthay  
University of California, San Francisco  
大野 長良  
東京大学医学部麻酔科  
山口 修  
横浜市立大学附属市民総合医療センター  
山川 直子  
武蔵野赤十字病院麻酔科